Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 12, No. 3, Fall 2020, p. 291-305

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد ۱۲، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۹، ص. ۳۰۵-۲۹۱

مقاله علمی- پژوهشی

ترکیب شیمیایی و فراسنجه‌های تجزیه پذیری شکمبه‌ای ماده خشک و پروتئین کنجاله منداب اصلاح شده عمل‌آوری شده با پرتو میکروویو

سیدروح اله ابراهیمی محمودآباد[1*]- علی نیکخواه[2]- علی اصغر صادقی[3]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۹/۲۲
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۸/۱۹

چکیده

این آزمایش به منظور مطالعه اثرات پرتو میکروویو بر تجزیه‌پذیری ماده خشک و پروتئین خام و حقیقی، قابلیت هضم برون‌تنی پروتئین خام، ترکیبات ضد تغذیه‌ای (گلوکوسینولات و اسید فایتیک) و ترکیبات شیمیایی کنجاله منداب اصلاح شده انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل کنجاله منداب اصلاح شده عمل‌آوری نشده و کنجاله منداب اصلاح شده عمل‌آوری شده با پرتو میکروویو با قدرت ۸۰۰ وات به مدت ۲، ۴ و ۶ دقیقه بودند. میزان تجزیه‌پذیری ماده خشک و پروتئین خام و حقیقی به روش کیسه‌های نایلونی اندازه‌گیری شد. مقدار ۶ گرم از هر تیمار به مدت صفر، ۲، ۴، ۸، ۱۶، ۲۴ و ۴۸ ساعت در شکمبه سه رأس گاو نر تالشی انکوباسیون شد. میزان پروتئین حقیقی با روش برادفورد و نحوه تجزیه شدن آن در زمان‌های مختلف انکوباسیون در شکمبه با روش الکتروفورز SDS-PAGE تعیین شد قابلیت هضم برون‌تنی پروتئین خام به روش آنزیمی سه مرحله‌ای تعیین شد. عمل‌آوری با پرتو میکروویو سبب کاهش اسید فایتیک و گلوکوسینولات‌های کنجاله منداب اصلاح شده به صورت روند خطی و درجه دو شد. پرتوتابی با میکروویو به مدت ۲، ۴ و ۶ دقیقه اسید فایتیک کنجاله منداب اصلاح شده را به ترتیب به میزان ۱۳، ۳۰ و ۵۱ درصد نسبت به کنجاله منداب عمل‌آوری نشده کاهش داد. مقدار گلوکوسینولات‌های کنجاله منداب پرتوتابی شده با میکروویو به مدت ۶ دقیقه به میزان ۶۷ درصد نسبت به کنجاله عمل آوری نشده کاهش یافت. پرتو میکروویو کاهش بخش سریع تجزیه، نرخ ثابت تجزیه و تجزیه‌پذیری مؤثر ماده خشک و افزایش بخش کند تجزیه ماده خشک و پروتئین خام و حقیقی کنجاله منداب اصلاح شده را سبب شد. قابلیت هضم برون‌تنی پروتئین خام کنجاله منداب اصلاح شده با عمل‌آوری با میکروویو تا ۴ دقیقه به طور معنی‌دار افزایش یافت. الکتروفورز پروتئین کنجاله منداب اصلاح شده نشان داد که عمده پروتئین در آنها شامل ناپین (آلبومین 2S) با دو زیرواحد و کروسیفرین (گلوبولین 12S) با چهار زیرواحد بود. تجزیه‌های الکتروفورز پروتئین کنجاله منداب اصلاح شده نشان داد که در کنجاله منداب اصلاح شده عمل‌آوری نشده چهار زیرواحد کروسیفرین؛ در کنجاله کنجاله منداب اصلاح شده عمل‌آوری شده، چهار زیرواحد کروسیفرین و زیرواحدهای ناپین بخش عمده پروتئین عبوری را تشکیل دادند. نتایج این پژوهش نشان داد که عمل‌آوری با میکروویو سبب کاهش تجزیه‌پذیری پروتئین خام و حقیقی در شکمبه، افزایش قابلیت هضم برون‌تنی پروتئین خام و کاهش مقدار ترکیبات ضد تغذیه‌ای کنجاله منداب اصلاح شده شد.

واژه‌های کلیدی: پرتوتابی، تجزیه پذیری، کنجاله منداب اصلاح شده، مواد ضد تغذیه‌ای.

مقدمه

تولید شیر گاوهای شیرده به دلیل بهبود پتانسیل ژنتیکی و مدیریت تغذیه‌ای و عوامل محیطی در طی دو دهه گذشته افزایش قابل ملاحظه‌ای داشته و به نظر می‌رسد این روند افزایشی همچنان ادامه یابد. با افزایش تولید شیر در گاوهای شیرده، نیاز پروتئینی گاوهای شیرده نیز افزایش یافته و تأمین این نیازها مستلزم افزایش مقدار مواد خوراکی با پروتئین با کیفیت در جیره است (۳۵). به منظور تأمین احتیاجات پروتئینی گاوهای پرتولید و ممتاز، در نظر گرفتن مقدار کافی پروتئین سریع تجزیه در شکمبه برای تأمین نیاز میکروارگانیسم‌ها و بازدهی مطلوب اکوسیستم میکروبی و همچنین مقدار کافی پروتئین عبوری برای عملکرد قابل قبول حیوان، با حداقل مقدار پروتئین خام جیره ضروری است (۳۵ و ۵۱).

یکی از راهکارهای تأمین پروتئین عبوری مورد نیاز نشخوارکنندگان پرتولید (شیرده یا پرواری) استفاده از پودر ماهی یا کنجاله گلوتن ذرت است. استفاده از این مواد خوراکی علاوه بر

۱-دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، واحد شهر قدس، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.
۲و۳- استاد و دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.
(*- ایمیل نویسنده مسئول: Email:ebrahimiyazd@yahoo.com)
DOI:10.22067/ijasr.v12i3.77304

محدودیت‌هایی که دارند، معمولا مقرون بـه صـرفه نیسـتند. امـروزه کنجاله دانه‌های روغنی بطور وسیع در تغذیه گاوهای شیرده پرتولیـد بکار می‌روند؛ ولی میزان تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای بعضی از کنجاله‌هـا زیاد بوده و مقدار زیادی از پروتئین آنها در شکمبه به آمونیاک تبدیل می‌شود. لذا افزایش پروتئین عبوری این منابع پروتئینـی بـا ارزش، از اهمیت ویژه‌ای در تغذیه نشخوارکنندگان پرتولید برخوردار است.

منداب اصلاح شده (براسیکا کامپستریس[1]) دانه روغنی است که در چند سال اخیر، تولید آن در ایران افزایش یافته است. بر اسـاس آمـار مرکز فناوری اطلاعات و ارتباطات وزارت جهـاد کشـاورزی در سـال زراعی ۹۵-۱۳۹۴ میزان تولید دانه کانولا ۱۸۱ هزار تن بوده است (۱). مصرف کنجاله منداب اصلاح شده بـه دلیـل بـالا رفـتن قیمـت سـایر کنجاله‌های رایج (کنجاله سویا و کنجاله پنبه دانه) در تغذیـه گـاو شـیرده افزایش یافته است، ولی علی رغم ترکیب آمینواسـید مناسـب، بـه جهـت تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای زیاد، بخش زیادی از پروتئین آن در شکمبه تجزیه شده و ارزش غذایی آن کاهش می‌یابد. تجزیه‌پذیری پـروتئین کنجالـه کنجاله منداب اصلاح شده در شکمبه حدود ۶۵ درصد است که نسبت به تجزیه‌پذیری پروتئین کنجاله سویا و کنجاله پنبه دانه به ترتیب ۳۱ و ۵۳ درصد بالاتر است (۳۵). همچنین، هر چند در نوع اصلاح شـده منداب (کانولا)، مقدار مواد ضد تغذیه‌ای کاهش یافته است، ولی هنوز مقداری مواد ضد تغذیه‌ای بویژه گلوکوسـینولات‌هـا و اسـید فایتیـک وجود دارد (۱۹، ۲۳ و ۶۰).

گلوکوسینولات‌ها، ترکیبات حـاوی گـوگرد، از متابولیـت ثانویـه گیاهان بوده و از نظر بیولوژیکی غیر فعال‌اند؛ ولی محصولات حاصل از تجزیه آنزیمی آنها دارای فعالیت بیولوژیکی‌اند. مصرف این ترکیبات سبب کاهش مصرف خوراک، کاهش بـاروری و کـاهش تولیـد شـیر درگاوهای شیرده (۲ و ۵۴)، کاهش وزن میش‌های شـیرده در زمـان آبستنی (۲۹)، کاهش رشد روزانه بـره‌هـای پـرواری (۴۹) و کـاهش مصرف خوراک، کاهش رشد و افزایش مرگ و میر جوجه‌های گوشتی (۳۰) می‌شود.

در طی سالیان گذشته روش‌های مختلف عمل‌آوری برای کاهش ترکیبات ضد تغذیه‌ای و تجزیه‌پـذیری شـکمبه‌ای پـروتئین کنجالـه دانه‌های روغنی شامل حرارت خشک و مرطوب، استفاده از فرمالدئید، لیگنو سولفونات، زایلوز و اسیدهای آلـی (۱۳، ۱۸، ۱۹، ۲۴، ۳۲ و ۵۹) استفاده شده است. عمده‌تـرین روش عمـل‌آوری فیزیکـی اسـتفاده از حرارت بوده است (۳۵). یکی از عمل‌آوری‌های حرارتی که در صـنایع غذایی و مهندسی مواد خوراکی کاربرد زیادی پیدا کرده اسـت، عمـل آوری با میکروویو است. امواج کوتاه مانند امواج نور یا امواج رادیویی، قسمتی از طیف الکترومغناطیس انرژی است که دو میدان الکتریکی و مغناطیسی دارند و به آنها اجازه اعمال فشار بر بارهـای الکتریکـی و

1-*Brassica campestris*

قطب‌های مغناطیسی به طور همزمان می‌دهد. هر چه طول موج کمتر باشد انرژی بیشتری توسط موج منتقل می‌شود (۱۷ و ۳۷). میکروویو فرکانس مناسبی برای واکنش نشان دادن با مولکول‌های آب و گـرم کردن مواد خوراکی دارد. آب به دلیل داشتن طبیعت دوقطبی، مولکول اصـلی تحـت تـأثیر امـواج الکترومغنـاطیس اسـت. وقتـی امـواج الکترومغناطیس به ماده خوراکی یا غذا برخورد می‌کند ، مولکول‌های آب به شدت شروع به چرخیدن می‌کند که سبب زیاد شـدن برخـورد مولکول‌ها و تولید گرما در سـطح و درون غـذا بـه صـورت یکسـان می‌شود. این امواج به درون ماده خوراکی نفوذ می‌کنـد و سـبب گـرم شدن یکنواخت مواد غذائی می‌شوند. در این فرآیند زمـان لازم بـرای عمل آوری مواد خوراکی نسبت به روش‌های دیگر که گرما از سـطح به درون غذا باید نفوذ کند، کمتر است (۳۷). حرارت سبب واسرشـتی پروتئین‌ها، همچنین بروز واکنش قهوه‌ای شدن غیر آنزیمی (میلارد[3]) بین گروه آلدئیدی قندها و گروه آمین آمینواسید پـروتئین‌هـا شـده و کمپلکس آمینو-قند تشکیل می‌شود. این کمپلکس در مقابل تجزیـه میکروبی در شکمبه مقاوم‌تـر از پلـی‌پپتیـدهای معمـولی اسـت ولـی آمینواسیدهای موجود در کمپلکس در روده باریک قابل هضم و جذب هستند (۵۶).

اخیراً گزارشاتی در ارتباط با اثر عمل‌آوری مـواد خـوراکی مـورد استفاده در جیره دام و طیور با میکروویو ارائه شده اسـت. نتـایج ایـن آزمایش‌ها نشان دادند که عمل‌آوری بـا میکروویـو مـی‌توانـد سـبب کاهش مواد ضد تغذیه ای، کاهش تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای پروتئین و افزایش قابلیت هضم روده‌ای برخی مواد خوراکی شـود (۱۵، ۱۶، ۳۹، ۴۲ و ۴۴)؛ ولی در رابطه با اثر عمل‌آوری با میکروویو بـر مـواد ضـد تغذیه‌ای، تجزیه‌پذیری ماده خشک و پروتئین خام و حقیقی و قابلیت هضم پروتئین خام کنجاله منداب اصـلاح شـده اطلاعـات کمـی در دسترس است؛ بنابراین هدف از انجـام ایـن پـژوهش بررسـی اثـرات عمل‌آوری با پرتو میکروویو بر مواد ضد تغذیه‌ای (گلوکوسینولات‌ها و اسید فایتیک)، ترکیبات شیمیایی، روند تجزیه پذیری پروتئین خـام و حقیقی، تعیین وزن مولکولی و مشخص کـردن الگـوی زیرواحـدهای پروتئینی کنجاله منداب اصلاح شده بود.

مواد و روش‌ها

عمل‌آوری با میکروویو

کنجاله منداب اصلاح شده از شرکت دامداران استان یـزد تهیـه و پس از آسیاب و تعیین ماده خشک، رطوبت ماده خوراکی به ۲۵ درصد رسانده شد. سپس، نمونه‌ها شامل ۵۰۰ گرم کنجاله منداب در دستگاه میکروویو با قدرت ۸۰۰ وات به مدت ۲، ۴ و ۶ دقیقه در معرض امواج میکروویو قرار گرفتند. نمونه‌های ماده خوراکی از میکروویو خارج و در سینی قرار داده شد تا خنک شوند. سپس به کیسـه‌هـای پلاسـتیکی

منتقل و در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند.

تعیین ترکیبات شیمیایی کنجاله مناداب اصلاح شده

تجزیه شیمیایی کنجاله مناداب عمل‌آوری نشده و عمل‌آوری شده با پرتو میکروویو با روش‌های استاندارد آزمایشگاهی (۵) در آزمایشگاه مرکزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات و مؤسسه تحقیقات علوم دامی کشور تعیین شد. ماده خشک با قرار دادن نمونه‌های مواد خوراکی در آون به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد، و با قرار دادن نمونه‌های مواد خوراکی در کوره الکتریکی با دمای ۶۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ ساعت، خاکستر آنها اندازه‌گیری شد. چربی خام با استفاده از دستگاه Soxtec مدل ۱۰۳۴ و یک ساعت شستشو با دی اتیل اتر اندازه گیری شد. مقدار پروتئین خام مواد خوراکی نیز با استفاده از دستگاه کجلدال تعیین شد (نیتروژن × ۶/۲۵). مقدار پروتئین حقیقی هر یک از مواد خوراکی با روش برادفورد (۹) تعیین شد. برای تعیین مقدار پروتئین حقیقی هر یک از مواد خوراکی از آلبومین سرم گاوی برای رسم منحنی استاندارد و کماسی بریلینت بلو برای اتصال به پروتئین (آمینواسید ترئونین و آروماتیک) استفاده شد. مقدار پروتئین حقیقی با استفاده دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج ۵۹۵ نانومتر با دقت ۰/۰۲ و ۰/۰۰۲ میکروگرم در میلی‌لیتر قرائت شد. الیاف نا محلول در شوینده خنثی به روش ون سوست و همکاران (۵۴) و با استفاده از دستگاه Fibertic (فایبرتک سیستم، تکاتور، سوئد) اندازه‌گیری شد.

روش اندازه‌گیری تجزیه‌پذیری ماده خشک و پروتئین خام

برای تعیین تجزیه‌پذیری ماده خشک و پروتئین، کنجاله با الک ۲ میلی‌متری آسیاب شدند. مقدار ۶ گرم نمونه ماده خوراکی عمل آوری نشده و عمل‌آوری شده به مدت صفر، ۲، ۴، ۸، ۱۶، ۲۴ و ۴۸ ساعت در شکمبه سه راس گاو نر نژاد تالشی با میانگین وزن ۴۱۶ کیلوگرم دارای فیستولای شکمبه در مؤسسه تحقیقات علوم دامی کشور طبق روش میچالت-دوراً و اولدبا (۳۱) انکوباسیون شد. گاوها با جیره حاوی ۷۰ درصد علوفه (یونجه خشک و کاه گندم به نسبت ۷۰ به ۳۰) و ۳۰ درصد کنسانتره (۵۳ درصد آرد جو، ۱۳ درصد کنجاله کانولا، ۱۶ درصد دانه کانولا، ۴ درصد کنجاله پنبه دانه، ۱۲ درصد سبوس گندم، ۱ درصد کربنات کلسیم و ۱ درصد مکمل مواد معدنی و ویتامینی) به مقدار ۸ کیلوگرم ماده خشک در روز به صورت جیره کاملاً مخلوط در دو نوبت صبح و عصر در ساعت‌های ۸ و ۱۶ دو هفته قبل و طی دوره آزمایش تغذیه شدند. گاوها در جایگاه‌های انفرادی نگهداری و دسترسی آزاد به آب و بلوک‌های لیسیدنی نمک داشتند. کیسه‌های مورد استفاده از جنس پلی استر و در ابعاد ۲۰×۱۰ سانتی‌متر با قطر منافذ ۴۵ میکرون بود. مقدار نمونه با رعایت نسبت وزن نمونه به سطح کیسه تعیین شد به طوری که فضای خالی مناسب در کیسه فراهم باشد. پس از سپری شدن زمان انکوباسیون، کیسه‌های حاوی مواد باقیمانده از داخل شکمبه خارج و بلافاصله با آب شستشو داده شد. پس از شستشوی کامل، کیسه‌ها داخل آون به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد خشک شدند. اختلاف وزن محتویات کیسه‌ها قبل و بعد از انکوباسیون به عنوان مقدار ناپدید ماده خشک در زمان‌های مختلف انکوباسیون در نظر گرفته شد. برای اندازه‌گیری مقدار ناپدید شدن کنجاله در زمان صفر یا مقدار مواد محلول در آب، کیسه‌های حاوی ۶ گرم نمونه در دو تکرار با آب سرد شستشو داده شد. پس از خشک کردن، اختلاف وزن محتویات کیسه‌ها قبل و بعد از شستشو به عنوان مقدار ناپدید شدن ماده خشک در زمان صفر در نظر گرفته شد. مقدار پروتئین خام و حقیقی باقیمانده‌های داخل کیسه‌ها برای تعیین روند تجزیه‌پذیری پروتئین کنجاله مناداب اصلاح شده اندازه‌گیری شد.

روش اندازه‌گیری قابلیت هضم برون‌تنی پروتئین خام

قابلیت هضم برون‌تنی پروتئین به روش سه مرحله‌ای کالسامیگلیا و استرن (۱۰) اندازه‌گیری شد. کیسه‌های حاوی نمونه‌های مواد خوراکی به مدت ۱۶ ساعت در شکمبه نگهداری و باقیمانده هضم نشده شکمبه‌ای (تقریباً حاوی ۱۵ میلی‌گرم نیتروژن) به مدت ۱ ساعت در ۱۰ میلی‌لیتر محلول اسید کلریدریک ۰/۱ نرمال که حاوی ۱ گرم پپسین در هر لیتر بود، انکوباسیون شد. سپس pH مخلوط با ۰/۵ میلی‌لیتر هیدروکسید سدیم ۱ نرمال و ۱۳/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات با pH ۷/۸ خنثی و ۳۷/۵ میلی‌گرم پانکراتین اضافه شد و به مدت ۲۴ ساعته در دمای ۳۸ درجه سانتی‌گراد انکوباسیون شد. سپس پروتئین‌های هضم نشده با محلول اسید تری کلرو استیک رسوب داده شد. مخلوط به مدت ۱۵ دقیقه (g × ۱۰۰۰۰) سانتریفیوژ شد و محلول بالائی برای تجزیه نیتروژن جدا شد. قابلیت هضم پروتئین به صورت نیتروژن محلول در اسید تری کلرو استیک تقسیم بر مقدار نیتروژن در نمونه (مواد باقیمانده در کیسه‌های نایلونی) اندازه‌گیری شد.

روش اندازه‌گیری اسید فایتیک و گلوکوسینولات‌ها

اسید فایتیک با استفاده از روش دبولند و همکاران (۱۴) اندازه‌گیری شد. در این روش نمونه‌های ماده خوراکی به طول ۲ میلی‌متر آسیاب شدند. مقدار ۲ گرم نمونه از هر ماده خوراکی در ۱۰۰ میلی‌لیتر محلول حاوی ۱/۲ درصد اسید کلریدریک و ۱۰ درصد سولفات سدیم به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفتند و سپس با سانتریفیوز کردن به مدت ۱۵ دقیقه (g × ۱۴۳۰) عصاره‌گیری شدند. مقدار ۱۰ میلی‌لیتر از عصاره‌ها پس از رقیق کردن با ۱۰ میلی‌لیتر آب و فرآوری

با ۵ میلی‌لیتر کلرید آهن و اسید کلریدریک حاوی سولفات سدیم جوشانده و به مدت ۱۵ دقیقه (g × ۳۲۲۰) سانتریفیوژ شدند. فسفر موجود در نمک آهن غیر محلول پس از هضم با ۳ میلی‌لیتر اسید سولفوریک و ۵ میلی‌لیتر اسید نیتریک، به وسیله اسپکتروفتومتر و در طول موج ۶۶۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. با فرض اینکه اسید فایتیک حاوی ۲۸/۲ درصد فسفر است، اسید فایتیک نمونه‌ها محاسبه شد.

گلوکوسینولات‌ها به روش اسپکتروفوتومتری اندازه‌گیری شد (۱۲). در این روش ابتدا نمونه‌ها با آسیاب دارای الک یک میلی‌متری آسیاب شدند و در پلیت‌های مختلف مقدار یک گرم از هر ماده خوراکی ریخته شد. سپس به نمونه شاهد ۲۰ سی‌سی متانول ۴۰ درصد برای از بین بردن فعالیت آنزیم اضافه و به نمونه‌های اصلی ۲۰ سی‌سی آب اضافه شد. پس از ۵ دقیقه روی کاغذ صافی واتمن شماره یک صاف شدند. سپس ۱۰۰ میکرولیتر آنزیم به نمونه‌ها اضافه و به مدت نیم ساعت در دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. گلوکز ایجاد شده به گلوکز ۶-فسفات تبدیل می‌شود که با اسپکتروفوتومتر تعیین شد.

الکتروفورز پروتئین

برای تعیین وضعیت زیرواحدهای پروتئین ماده خوراکی، از تکنیک الکتروفورز ژل پلی‌آکریلامید با اندکی تغییرات به روش لاملی (۲۷) استفاده شد.

استخراج پروتئین حقیقی مواد خوراکی برای انجام الکتروفورز:

برای استخراج پروتئین حقیقی مقدار ۱۵ میلی‌گرم نمونه‌های عمل‌آوری نشده و میکروویو شده و یا انکوباسیون شده در ساعات مختلف در شکمبه به درون لوله‌های اپندورف منتقل شد. سپس ۷۵۰ میکرولیتر بافر استخراج حاوی ۰/۶۲۵ مولار Tris-Hcl (pH=۶/۸)، ۱۰ درصد سدیم دودسیل سولفات (SDS)، ۲/۵ درصد بتا مرکاپتو اتانول، ۷ درصد گلیسرول، ۴ میلی‌گرم بروموفنل بلو اضافه شد. پس از ۳۰ دقیقه به هم زدن بر روی همزن مخصوص لوله اپندورف در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، پروتئین نمونه‌ها استخراج و پس از قرار دادن در آب ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ دقیقه و سانتریفیوژ به مدت ۱ دقیقه (g × ۱۰۰۰۰) مایع صاف شده بالائی جدا شد. مایع بالائی به لوله های اپندورف منتقل و برای انجام الکتروفورز استفاده شد (۲۷).

از دستگاه الکتروفورز عمودی مدل TV400 برای الکتروفورز استفاده شد. ۳۰ میکرولیتر از مایع بالائی نمونه‌های انکوباسیون نشده و انکوباسیون شده در ساعات مختلف به چاهک‌های الکتروفورز با ژل بالائی حاوی ۳/۷۵ درصد آکریلامید-بیس آکریلامید و ژل پائینی حاوی ۱۴ درصد آکریلامید-بیس آکریلامید منتقل شد. ابعاد ژل ۱۹۰×۱۴۰×۱ میلی‌متر و شدت جریان ۶۰ میلی‌آمپر و ژل‌ها دو طرفه بسته شد. پس از رسیدن رنگ برموفنل بلو به انتهای ژل منبع تغذیه را خاموش کرده اقدام به خارج کردن ژل‌ها از داخل شیشه‌ها شد. طول مدت الکتروفورز با این مشخصات چهار و نیم ساعت بود. از مارکر پروتئینی فرمنتاز[1] حاوی بتاگلوکوزیداز (۱۱۶ کیلودالتون)، آلبومین سرم گاوی (۶۶/۰ کیلودالتون)، اُاَلبومین (۴۵ کیلودالتون)، لاکتات دهیدروژناز (۳۵ کیلودالتون)، آندونوکلئاز (۲۵ کیلودالتون)، بتالاکتوگلوبولین (۱۸/۴ کیلودالتون) و لیزوزیم (۱۴/۴ کیلودالتون) برای تعیین وزن مولکولی زیرواحدهای پروتئین مواد خوراکی مورد مطالعه استفاده شد (۲۷).

پس از بیرون آوردن ژل‌ها از شیشه‌های الکتروفورز با محلول حاوی ۰/۰۲۵ گرم رنگ کوماسی بلو G-250، ۷ درصد اسید استیک گلیسیال و ۴۰ درصد متانول به مدت ۲۴ ساعت رنگ‌آمیزی و سه مرتبه با محلول حاوی ۷ درصد اسید استیک گلیسیال و ۵ درصد متانول با قرار دادن بر شیکر رنگ‌بری و سپس با دوربین معمولی تصویربرداری شدند (۲۷).

برآورد وزن مولکولی زیرواحدهای پروتئین‌ها

برای تعیین وزن مولکولی زیرواحدهای پروتئینی از نرم افزار Phopto Capture (ویرایش ۱۹۹۹) استفاده شد. نرم افزار فوق بر اساس محاسبه حرکت نسبی هر پروتئین مارکر در ژل و مقایسه آن با حرکت نسبی هر زیرواحد، وزن مولکولی آن زیرواحد را تعیین می‌کند (۴۱).

روش تجزیه و تحلیل اطلاعات:

پس از محاسبه درصد تجزیه پذیری نمونه‌ها در ساعت‌های مختلف انکوباسیون در شکمبه، فراسنجه‌های مختلف تجزیه پذیری مؤثر ماده خشک و پروتئین خام و حقیقی در نرخ‌های عبور ۲، ۵ و ۸ درصد در ساعت با استفاده از بسته نرم افزاری Fit curve و رابطه ارسکوف و مکدونالد (۳۸) محاسبه شد.

$$ED=a+b/(c+k)$$

در این دو رابطه a بخش سریع تجزیه، b بخش کند تجزیه، c نرخ ثابت تجزیه در واحد زمان، k نرخ عبور از شکمبه و ED تجزیه‌پذیری مؤثر است.

آزمایش تجزیه‌پذیری و قابلیت هضم در قالب طرح بلوک کاملاً تصادفی با شش تکرار (سه حیوان × دو کیسه برای هر زمان انکوباسیون در هر گاو) انجام شد. مدل آماری مورد استفاده به صورت $Y_{ijk}= \mu + T_i + Bj + e_{ijk}$ بود. به منظور تعیین اثر پرتو میکروویو بر مواد ضد تغذیه‌ای (گلوکوسینولات و اسید فایتیک) و ترکیبات

1-Fermentas

شیمیایی کنجاله منداب اصلاح شده آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با شش تکرار انجام شد. مدل آماری مورد استفاده به صورت $Y_{ijk}= \mu + T_i + e_{ijk}$ بود. در این مدل‌ها Y_{ijk} مقدار هر مشاهده، μ میانگین صفت مورد مطالعه، T_i اثر عمل‌آوری، B_j اثر حیوان و e_{ij} خطای آزمایشی است. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها در این مطالعه با استفاده از نسخه ۶/۱۲ بسته نرم افزاری SAS (۴۵)، Proc GLM صورت گرفت. پس از تجزیه واریانس، میانگین‌ها با آزمون کمترین اختلاف معنی دار مقایسه شدند. اثرات تیمارهای آزمایشی در تمامی متغییرها به اثرات خطی (linear) و درجه دو (quadratic) متعامد تفکیک شد.

نتایج و بحث

اثرات پرتو میکروویو بر ترکیبات شیمیایی و مواد ضدتغذیه‌ای کنجاله منداب اصلاح شده

اثرات عمل‌آوری با پرتو میکروویو بر ترکیبات شیمیایی و مواد ضدتغذیه‌ای کنجاله منداب اصلاح شده در جدول ۱ گزارش شده است. عمل‌آوری با پرتو میکروویو اثر معنی‌داری بر ترکیبات شیمیایی کنجاله منداب اصلاح شده نداشت($P>۰/۰۵$)؛ ولی سبب کاهش مواد ضد تغذیه‌ای آن به صورت خطی و درجه دو شد ($P<۰/۰۱$) که با نتایج آزمایش‌های سایر محققین (۱۵، ۱۶، ۲۶ و ۴۸) هماهنگی دارد؛ ولی با نتایج آزمایش پیر عدل و همکاران (۴۲) هماهنگی ندارد. پرتوتابی با میکروویو به مدت ۲، ۴ و ۶ دقیقه اسید فایتیک کنجاله منداب اصلاح شده را به ترتیب به میزان ۱۳، ۳۰ و ۵۱ درصد نسبت به کنجاله منداب عمل‌آوری نشده کاهش داد. میزان گلوکوسینولات‌های کنجاله منداب پرتوتابی شده با میکروویو به مدت ۶ دقیقه به میزان ۶۷ درصد نسبت به کنجاله عمل‌آوری نشده کاهش یافت. شیخعلی پور و همکاران (۴۷) گزارش کردند که پرتوبتابی دانه ماشک با میکروویو به مدت ۳ دقیقه با قدرت ۸۰۰ وات تاثیری بر ترکیبات شیمیایی آن نداشت. پیر عدل و همکاران (۴۲) گزارش کردند که پرتوتابی واریته‌های مختلف جو با میکروویو به مدت ۲، ۴ و ۶ دقیقه با قدرت ۹۰۰ وات سبب کاهش ماده خشک، پروتئین خام، چربی خام، الیاف نامحلول در شوینده اسیدی و الیاف نامحلول در شوینده خنثی آن شد. نتایج مشابهی به وسیله سایر محققین نیز گزارش شده است (۳ و ۳۳).

جدول ۱-اثر عمل آوری با میکروویو بر میانگین ترکیبات شیمیایی و مواد ضد تغذیه‌ای کنجاله منداب اصلاح شده بر مبنای ماده خشک

Table 1-effects of microwave irradiation on chemical composition and anti-nutritional factors of CM

	Untreated CM	Microwave-irradiated CM			SEM	P Value	Untreated vs Irradiated	Orthogonal contrasts	
		2 min	4 min	6 min				Linear	Quadratic
ماده خشک Dry matter (g/kg)	892	891	893	895	4.6	0.86	0.86	0.51	0.60
پروتئین خام Crude protein (g/kg DM)	366	362	364	367	2.7	0.46	0.52	0.67	0.14
عصاره اتری Ether extract (g/kg DM)	30	30	30	29.8	5.8	0.87	0.47	0.66	0.68
الیاف نامحلول در شوینده خنثی Neutral Detergent Fiber (g/kg DM)	269	268	269	272	0.97	0.79	0.90	0.48	0.49
لیاف نا محلول در شوینده اسیدی Acid Detergent Fiber (g/kg DM)	171	174	175	176	6.9	0.67	0.27	0.24	0.77
خاکستر Ash (g/kg DM)	69.2	69.7	69.8	71.5	1.44	0.37	0.31	0.11	0.55
اسید فایتیک Phytic acid (g/kg DM)	44.7[a]	38.8[b]	31.2[c]	22.0[d]	0.83	0.01	0.01	0.01	0.20
گلوکوسینولات Glucosinolate (mmol/g)	21.6[a]	13.3[b]	9.5[c]	7.1[d]	2.01	0.01	0.01	0.01	0.01

[a, b, c, d] میانگین‌های هر ردیف با حروف مختلف از لحاظ آماری اختلاف معنی دار دارند.

CM: کنجاله کانولا، SEM: اشتباه معیار میانگین

[a, b, c,d] Means in the same row with different letters are different

CM, canola meal, SEM, standard error of mean

مبارک (۳۳) گزارش کرد که با عمل‌آوری لوبیا با میکروویو به مدت ۱۵ دقیقه با فرکانس ۲۴۵۰ مگاهرتز، مقدار اسید فایتیک لوبیا کاهش یافت. همچنین، الاجاجی و ال-ادوای (۳) نشان دادند که عمل‌آوری نخود با میکروویو به مدت ۱۵ دقیقه با فرکانس ۲۴۵۰ مگاهرتز و اتوکلاو کردن در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد سبب کاهش اسید فایتیک نخود به ترتیب به میزان ۳۸ و ۴۲ درصد شد.

اثرات منفی اسید فایتیک شامل کاهش زیست فراهمی مواد معدنی و کاهش قابلیت هضم اسیدهای آمینه در روده کوچک است (۱۰ و ۴۸). همچنین اسید فایتیک قابلیت هضم نشاسته را در طیور کاهش می‌دهد (۴۹ و ۶۱). به نظر می‌رسد که امواج میکروویو سبب تجزیه شیمیایی فیتات به اینوزیتول فسفات‌های با گروه‌های فسفر کمتر و یا با شکاف حلقه فیتات سبب کاهش مقدار اسید فایتیک می‌شود (۱۷).

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که عمل‌آوری با میکروویو سبب کاهش مقدار گلوکوسینولات ماده خوراکی مورد مطالعه شد ($P<0/01$) که با نتایج مطالعه‌های سایر محققین (۱۵، ۲۸ و ۵۲) هماهنگی دارد. مقدار گلوکوسینولات‌ها با افزایش مدت زمان عمل‌آوری با میکروویو کاهش یافت. عمل‌آوری با میکروویو به مدت ۲، ۴ و ۶ دقیقه به ترتیب سبب کاهش مقدار گلوکوسینولات‌های کنجاله منداب اصلاح شده در حد ۳۸، ۵۶ و ۶۷ درصد نسبت به کنجاله عمل‌آوری نشده شد. نتایج آزمایش‌های ماهشوری و همکاران (۲۸) نشان داد که عمل‌آوری کنجاله منداب (۹۸/۷ درصد ماده خشک) با میکروویو به مدت ۲/۵ دقیقه با فرکانس ۲۴۵۰ مگاهرتز سبب تجزیه کل گلوکوسینولات‌ها به میزان ۳۷ درصد شد. مقدار گلوکوسینولات‌ها با افزایش رطوبت و مدت زمان عمل‌آوری کاهش یافت (۲۸). والجو و همکاران (۵۳) گزارش کردند که عمل‌آوری کلم (۱۵ درصد رطوبت) با میکروویو به مدت ۵ دقیقه با قدرت ۱۰۰۰ وات سبب تجزیه گلوکوسینولات‌ها به میزان ۷۴ درصد شد. همچنین ابراهیمی محمودآباد و همکاران (۱۵) گزارش کردند که عمل‌آوری دانه منداب بومی با میکروویو به مدت ۲، ۴ و ۶ دقیقه با قدرت ۸۰۰ وات سبب کاهش مقدار گلوکوسینولات‌های به ترتیب به میزان ۳۵، ۵۲ و ۶۴ درصد نسبت به دانه عمل آوری نشده شد. کاهش در مقدار گلوکوسینولات‌های کنجاله منداب با سایر عمل‌آوری‌های حرارتی نیز گزارش شده است (۱۹ و ۲۴). فنویک و همکاران (۱۹) گزارش کردند که میکرونیزه کردن کنجاله منداب به مدت ۹۰ ثانیه در دمای ۱۹۵ درجه سانتی‌گراد در کاهش گلوکوسینولات‌ها مؤثر بود. نتایج مشابهی هانگ و همکاران (۲۴) با نواری کردن کنجاله منداب مرطوب در دمای ۱۵۰ درجه سانتی‌گراد گزارش کردند.

مصرف زیاد گلوکوسینولات‌ها سبب کاهش خوش‌خوراکی جیره، کاهش رشد و کاهش تولید شیر می‌شود (۲). مصرف زیاد کنجاله منداب دارای گلوکوسینولات کم در جیره گاو شیرده سبب کاهش تولید مثل و اختلال غده تیروئید شده است (۲). سازوکار کاهش گلوکوسینولات‌های کنجاله منداب اصلاح شده شد. پس از عمل‌آوری با میکروویو شامل تجزیه گلوکوسینولات‌ها و حذف محصولات حاصل از تجزیه بویژه ایزوتیوسیانات‌ها و اکسازولیدین تیون است (۱۹، ۲۴ و ۳۶).

اثرات میکروویو بر فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری و قابلیت هضم پروتئین خام

اثرات عمل‌آوری با میکروویو بر فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری ماده خشک و پروتئین خام کنجاله منداب اصلاح شده در جدول ۲ گزارش شده است. پروتئین خام کنجاله عمل‌آوری نشده منحنی تجزیه‌پذیری با بخش سریع تجزیه ۲۵۴ گرم در کیلوگرم، بخش کند تجزیه ۶۹۷ گرم در کیلوگرم و نرخ ثابت تجزیه بخش کند تجزیه ۰/۰۸۳ درصد در ساعت داشت. مقادیر تجزیه‌پذیری مؤثر پروتئین خام بدست آمده در این پژوهش با مقادیر بدست آمده توسط سایر محققین هماهنگی دارد (۳۲ و ۴۳)؛ ولی مقادیر بخش سریع تجزیه، بخش کند تجزیه و تجزیه پذیری بالقوه پروتئین خام گزارش شده در این آزمایش بیشتر از مقادیر گزارش شده توسط قنبری و همکاران (۲۲) بود که این تفاوت را می‌توان به متفاوت بودن روش اندازه‌گیری تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای، نوع واریته و ترکیب شیمیایی کنجاله منداب مورد آزمایش نسبت داد. عمل‌آوری کنجاله منداب اصلاح شده با میکروویو به مدت ۲، ۴ و ۶ دقیقه سبب کاهش بخش سریع تجزیه ماده خشک و پروتئین خام به صورت خطی و درجه دو شد ($P<0/01$). عمل‌آوری با میکروویو تجزیه‌پذیری مؤثر ماده خشک در سرعت عبور ۵ و ۸ درصد نسبت به کنجاله عمل آوری نشده با روند خطی کاهش داد ($P<0/01$). عمل‌آوری با میکروویو بیش از ۲ دقیقه تجزیه‌پذیری مؤثر پروتئین خام را به صورت روند خطی و درجه دو کاهش داد ($0/01>P$). تجزیه‌پذیری مؤثر پروتئین خام کنجاله منداب اصلاح شده عمل‌آوری شده با میکروویو به مدت ۲، ۴ و ۶ دقیقه به ترتیب در حد ۴، ۱۴ و ۲۳ درصد نسبت به کنجاله منداب اصلاح شده عمل‌آوری نشده کاهش یافت. نرخ ثابت تجزیه پروتئین خام کنجاله کنجاله منداب اصلاح شده پس از عمل‌آوری با میکروویو به مدت ۴ و ۶ دقیقه به ترتیب ۳۸ و ۴۰ درصد نسبت به کنجاله منداب اصلاح شده عمل آوری نشده کاهش یافت. نتایج این مطالعه با نتایج آزمایش‌های محققین دیگر هماهنگی دارد (۴۳، ۴۴، ۴۶، ۴۷ و ۶۰). شورنگ و همکاران (۴۶) گزارش کردند که عمل‌آوری کنجاله سویا با پرتو میکروویو به مدت ۴ دقیقه با قدرت ۸۰۰ وات بخش سریع تجزیه، نرخ ثابت تجزیه و تجزیه پذیری موثر شکمبه‌ای پروتئین خام را به ترتیب به میزان ۸، ۶۷ و ۵ درصد نسبت به کنجاله عمل‌آوری نشده کاهش و بخش کند تجزیه پروتئین خام کنجاله عمل‌آوری شده را به

میزان ۶۳ درصد نسبت بـه کنجالـه عمـل آوری نشـده افـزایش داد. شیخعلی پور و همکاران (۴۷) گزارش کردند که پرتوبتابی دانه ماشک با میکروویو به مدت ۳ دقیقه با قدرت ۸۰۰ وات سبب کاهش بخـش سریع تجزیه پروتئین خام دانه ماشک نسبت به دانه عمل‌آوری نشده شد.

جدول ۲-اثرات پرتو میکروویو بر فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای ماده خشک و پروتئین خام و قابلیت هضم برون تنی پروتئین خام کنجاله منداب اصلاح شده

Table 2-Effects of microwave irradiation on rumen degradation parameters of dry matter and crude protein and in vitro crude protein digestibility of CM

	کنجاله کانولا عمل آوری نشده Untreated CM	کنجاله کانولا پرتوتابی شده Microwave irradiated CM			اشتباه معیار میانگین SEM	سطح معنی داری P value	Untreated vs Irradiated	Orthogonal contrasts	
		2 min	4 min	6 min				Linear	Quadratic
ماده خشک Dry matter									
بخش سریع تجزیه (گرم/کیلوگرم) *a*(g/kg)[1]	298^{a}	272^{ab}	244^{bc}	167^{d}	10.76	0.01	0.01	0.01	0.01
بخش کند تجزیه (گرم/کیلوگرم) *b*(g/kg)[2]	552^{c}	561^{bc}	603^{bc}	677^{a}	17.74	0.01	0.01	0.01	0.06
پتانسیل تجزیه پذیری (گرم/کیلوگرم) *a+b(g/kg)*	849	833	847	844	14.07	0.99	0.99	0.99	0.97
سرعت تجزیه پذیری *c*/h[3]	0.082^{a}	0.074^{a}	0.045^{b}	0.045^{b}	0.0043	0.01	0.01	0.01	0.83
تجزیه پذیری موثر (گرم/کیلوگرم) Effective rumen degradation (g/kg)[4]									
0.02/h	740^{a}	713^{a}	660^{b}	632^{c}	8.23	0.01	0.01	0.01	0.21
0.05/h	640^{a}	606^{b}	527^{c}	484^{d}	8.49	0.01	0.01	0.01	0.06
0.08/h	577^{a}	541^{b}	450^{c}	408^{d}	8.71	0.01	0.01	0.01	0.03
پروتئین خام Crude protein									
بخش سریع تجزیه (گرم/کیلوگرم) *a*(g/kg)[1]	254^{a}	223^{ab}	214^{b}	153^{c}	10.24	0.01	0.01	0.01	0.01
بخش کند تجزیه (گرم/کیلوگرم) *b*(g/kg)[2]	697^{d}	736^{bcd}	752^{abc}	780^{ab}	10.48	0.02	0.01	0.01	0.60
پتانسیل تجزیه پذیری (گرم/کیلوگرم) *a+b(g/kg)*	952	959	966	933	9.06	0.66	0.92	0.43	0.35
سرعت تجزیه پذیری *c*/h[3]	0.083^{a}	0.099^{a}	0.051^{b}	0.060^{b}	0.0040	0.01	0.01	0.01	0.79
تجزیه پذیری موثر (گرم/کیلوگرم) Effective rumen degradation (g/kg)									
0.02/h	817^{a}	804^{a}	755^{b}	701^{c}	6.99	0.01	0.01	0.01	0.01
0.05/h	691^{a}	665^{a}	597^{b}	534^{c}	7.20	0.01	0.01	0.01	0.01
0.08/h	612^{a}	581^{a}	512^{b}	445^{c}	7.52	0.01	0.01	0.01	0.01
قابلیت هضم برون تنی پروتئین خام (گرم/کیلوگرم) *In vitro* crude protein digestibility (g/kg)	664^{d}	710^{bc}	734^{b}	699^{c}	5.97	0.01	0.01	0.01	0.01

a, b, c, d میانگین‌های هر ردیف با حروف مختلف از لحاظ آماری اختلاف معنی دار دارند.

۱-بخش سریع تجزیه، ۲- بخش کند تجزیه شونده، ۳- سرعت تجزیه پذیری، ۴-تجزیه پذیری موثر در سرعت عبور ۲، ۵ و ۸ درصد با ستفاده از فرمول $ED=a+bc/(c+k)$ محاسبه شد.

CM:کنجاله کانولا، SEM: اشتباه معیار میانگین

a, b, c, d Means in the same row with different letters are different

1-*a*, the washout fraction; 2-*b*, the potentially degradable fraction; 3-*c*, the rate of degradation.

4-Effective rumen degradation was calculated according to the equation $ED=a+bc/(c+k)$, using rumen outflow rate (k) of 0.02, 0.05 and 0.08 h^{-1}

CM, Canola meal; SEM, standard error of mean

یان و همکاران (۶۰) گزارش کردند که پرتوتابی دانه جو با میکروویو به مدت ۵ دقیقه، بخش سریع تجزیه پروتئین خام دانه جو را از ۴۵/۲۲ درصد به ۶/۳۶ درصد و تجزیه پذیری موثر پروتئین خام را از ۵۵/۷۰ درصد به ۳۴/۰۸ درصد کاهش داد و میزان پروتئین عبوری به روده کوچک را از ۴۳/۳۱ درصد به ۶۵/۹۲ درصد افزایش داد.

کاهش تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای پروتئین به حرارت میکروویو نسبت داده می‌شود که سبب ژله‌ای شدن پروتئین می‌شود؛ ولی بنیک و همکاران (۶) پیشنهاد کردند که اثرات غیر حرارتی میکروویو سبب تغییرات در ساختمان پروتئین‌ها می‌شود. سازوکارهای محافظت پروتئین در برابر تجزیه شکمبه در کنجاله عمل‌آوری شده با حرارت پیچیده است (۸)؛ ولی احتمالاً واکنش‌های شیمیایی ایجاد شده در طی عمل‌آوری حرارتی شامل تشکیل مجموعه‌های بهم چسبیده پروتئینی (ژل) و ایجاد اتصالات عرضی بین پروتئین‌ها سبب کاهش دسترسی آنزیم‌های پروتئولتیک میکروبی و در نهایت کاهش سرعت و میزان تجزیه میکروبی پروتئین‌ها در شکمبه می‌شود (۵۲ و ۵۵).

عمل‌آوری با میکروویو سبب افزایش قابلیت هضم برون‌تنی پروتئین خام کنجاله منداب به صورت روند خطی شد ($P<0.01$) که با نتایج آزمایش‌های سایر محققین همخوانی دارد (۲۲، ۴۳، ۴۴ و ۴۶). قابلیت هضم برون‌تنی پروتئین خام کنجاله منداب اصلاح شده عمل‌آوری شده با میکروویو به مدت ۲، ۴ و ۶ به ترتیب در حد ۷، ۹ و ۵ درصد نسبت به کنجاله منداب اصلاح شده عمل‌آوری نشده افزایش یافت. شورنگ و همکاران (۴۶) نیز گزارش کردند که عمل آوری کنجاله سویا با پرتوهای میکروویو، مادون قرمز، گاما و الکترون سبب افزایش قابلیت هضم برون تنی پروتئین خام شد. همچنین، پایا و همکاران (۳۹) گزارش کردند که عمل آوری دانه گلرنگ با میکروویو به مدت ۳ دقیقه با قدرت ۸۰۰ وات سبب کاهش تجزیه‌پذیری ماده خشک و پروتئین خام و افزایش ناپدید شدن روده‌ای پروتئین خام دانه گلرنگ شد. نتایج مشابهی توسط جلیلیان و همکاران (۲۶) گزارش شد. جلیلیان و همکاران (۲۶) گزارش کردند که پرتوتابی کنجاله آفتاب‌گردان با میکروویو به مدت ۴ دقیقه با قدرت ۸۰۰ وات سبب افزایش قابلیت هضم روده‌ای پروتئین آن شد. بنابر گزارش واگنر و همکاران (۵۶) واسرشتی در طی عمل‌آوری با حرارت گروه‌های فعال شیمیایی را افزایش داده و سبب افزایش قابلیت هضم پروتئین می‌شود. عمل‌آوری با میکروویو به مدت ۶ دقیقه سبب کاهش قابلیت هضم پروتئین شد. نتایج مشابهی توسط صادقی و شورنگ (۴۴) با عمل‌آوری کنجاله پنبه دانه با میکروویو به مدت ۶ دقیقه با قدرت ۸۰۰ وات گزارش کردند. حرارت زیاد سبب تشکیل محصولات میلاردی مقاوم به هضم آنزیمی می‌شود (۵۴). همچنین، پرتوتابی سبب ایجاد پیوندهای عرضی، شکستن پیوندهای هیدروژنی و سایر پیوندهای ضعیف غیر کووالانسی، تغییر موقعیت اسیدهای آمینه و در نهایت افزایش آب گریزی سطحی پروتئین‌ها می‌شود. با توجه به اینکه گروه‌های جانبی اسیدهای آمینه آب گریز گروه‌های فعال شیمیایی آنزیم‌های تریپسین و کیموتریپسین هستند، سبب افزایش قابلیت هضم پروتئین شد (۲۴ و ۵۵).

اثرات عمل‌آوری با میکروویو بر فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری پروتئین حقیقی

اثرات عمل‌آوری با میکروویو بر فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری پروتئین حقیقی کنجاله منداب اصلاح شده در جدول ۳ گزارش شده است. عمل‌آوری کنجاله منداب اصلاح شده با میکروویو با روند خطی سبب کاهش بخش سریع تجزیه و افزایش بخش کند تجزیه پروتئین حقیقی شد ($P<0.01$). نتایج مشابهی توسط شورنگ و همکاران (۴۶) گزارش شد. شورنگ و همکاران (۴۶) افزایش بخش B2 و کاهش بخش B1 پروتئین کنجاله سویا عمل آوری شده با میکروویو بدون افزایش در بخش C پروتئین گزارش کردند. بخش B1، B2 و C به ترتیب پروتئین قابل حل در بافر، پروتئین غیر قابل حل در شوینده خنثی و پروتئین غیر قابل حل در شوینده اسیدی بر اساس تقسیم بندی پروتئین در سیستم کربوهیدرات و پروتئین کرنل هستند. عمل‌آوری با میکروویو به مدت ۲، ۴ و ۶ دقیقه به ترتیب سبب کاهش بخش سریع تجزیه پروتئین حقیقی به میزان ۱۷، ۲۹ و ۵۲ درصد نسبت به کنجاله عمل‌آوری نشده شد. عمل‌آوری با میکروویو تجزیه پذیری مؤثر پروتئین حقیقی در سرعت عبور ۵ و ۸ درصد نسبت به کنجاله عمل‌آوری نشده کاهش داد ($P<0.01$). عمل‌آوری با میکروویو بیش از ۲ دقیقه سبب کاهش نرخ ثابت تجزیه پروتئین حقیقی شد ($P<0.01$)؛ ولی تفاوت معنی‌داری بین عمل‌آوری با میکروویو به مدت ۴ و ۶ دقیقه مشاهده نشد. نرخ ثابت تجزیه پروتئین حقیقی کنجاله منداب پس از عمل‌آوری با میکروویو به مدت ۴ و ۶ دقیقه به ترتیب ۳۳ و ۳۷ درصد نسبت به کنجاله عمل‌آوری نشده کاهش یافت. همچنین یان و همکاران (۶۰) گزارش کردند که عمل آوری دانه جو با پرتو میکروویو نرخ ثابت تجزیه بخش کند تجزیه پروتئین خام را از ۸/۱۶ درصد به ۳/۵۳ درصد کاهش داد. بخش اعظم پروتئین کنجاله منداب آلبومین و کروسیفرین است که حساسیت بالایی نسبت به حرارت دارد. حرارت سبب دناتوره شدن ساختار پروتئین و افزایش آب‌گریزی پروتئین به دلیل جدا شدن پیوندهای هیدروژنی و سایر پیوندهای ضعیف کووالانسی شده و با تغییر ساختار مولکولی پروتئین آب‌گریزی پروتئین، قابلیت دسترسی میکروارگانیسم‌های شکمبه‌ای را کاهش یافته و سبب کاهش تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای پروتئین حقیقی شده است (۲۱ و ۴۰).

جدول ۳-اثر عمل‌آوری با میکروویو بر میانگین فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای پروتئین حقیقی کنجاله منداب اصلاح شده

Table 3- Effects of microwave irradiation on rumen degradation parameters of true protein of CM

	کنجاله کانولا عمل آوری نشده Untreated CM	کنجاله کانولا پرتوتابی شده Microwave irradiated CM			اشتباه معیار میانگین SEM	سطح معنی داری P value	Untreated vs Irradiated	Orthogonal contrasts	
		2 min	4 min	6 min				Linear	Quadratic
پروتئین خام Crude protein									
بخش سریع تجزیه (گرم/کیلوگرم) *a*(g/kg)[1]	249[a]	207[bc]	176[c]	120[d]	10.24	0.01	0.32	0.01	0.65
بخش کند تجزیه (گرم/کیلوگرم) *b*(g/kg)[2]	723[d]	766[cd]	796[c]	840[ab]	10.48	0.01	0.02	0.01	0.98
پتانسیل تجزیه پذیری (گرم/کیلوگرم) *a+b(g/kg)*	971	973	972	960	9.06	0.83	0.18	0.51	0.55
سرعت تجزیه پذیری *c*/h[3]	0.076[a]	0.068[c]	0.051[b]	0.048[b]	0.0040	0.01	0.03	0.01	0.56
تجزیه پذیری موثر (گرم/کیلوگرم) Effective rumen degradation (g/kg)									
0.02/h	820[a]	797[a]	746[b]	711[b]	6.99	0.01	0.42	0.01	0.49
0.05/h	685[a]	648[b]	578[c]	530[d]	7.20	0.01	0.08	0.01	0.64
0.08/h	603[a]	560[b]	487[c]	435[d]	7.52	0.01	0.04	0.01	0.67

[a, b, c, d] میانگین‌های هر ردیف با حروف مختلف از لحاظ آماری اختلاف معنی دار دارند.

۱-بخش سریع تجزیه، ۲- بخش کند تجزیه شونده، ۳- سرعت تجزیه پذیری، ۴-تجزیه پذیری موثر در سرعت عبور ۲، ۵ و ۸ درصد با ستفاده از فرمول $ED=a+bc/(c+k)$ محاسبه شد.

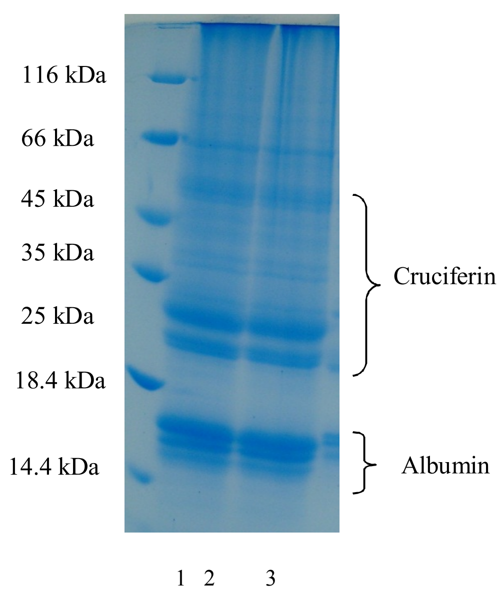
CM:کنجاله کانولا، SEM: اشتباه معیار میانگین

[a, b, c, d] Means in the same row with different letters are different

1-*a*, the washout fraction; 2-*b*, the potentially degradable fraction; 3-*c*, the rate of degradation.

4-Effective rumen degradation was calculated according to the equation $ED=a+bc/(c+k)$, using rumen outflow rate (k) of 0.02, 0.05 and 0.08 h^{-1}

CM, Canola meal; SEM, standard error of mean



شکل ۱- الگو مارکر پروتئینی (۱) و زیرواحدهای پروتئین کنجاله منداب اصلاح شده (۲ و ۳)

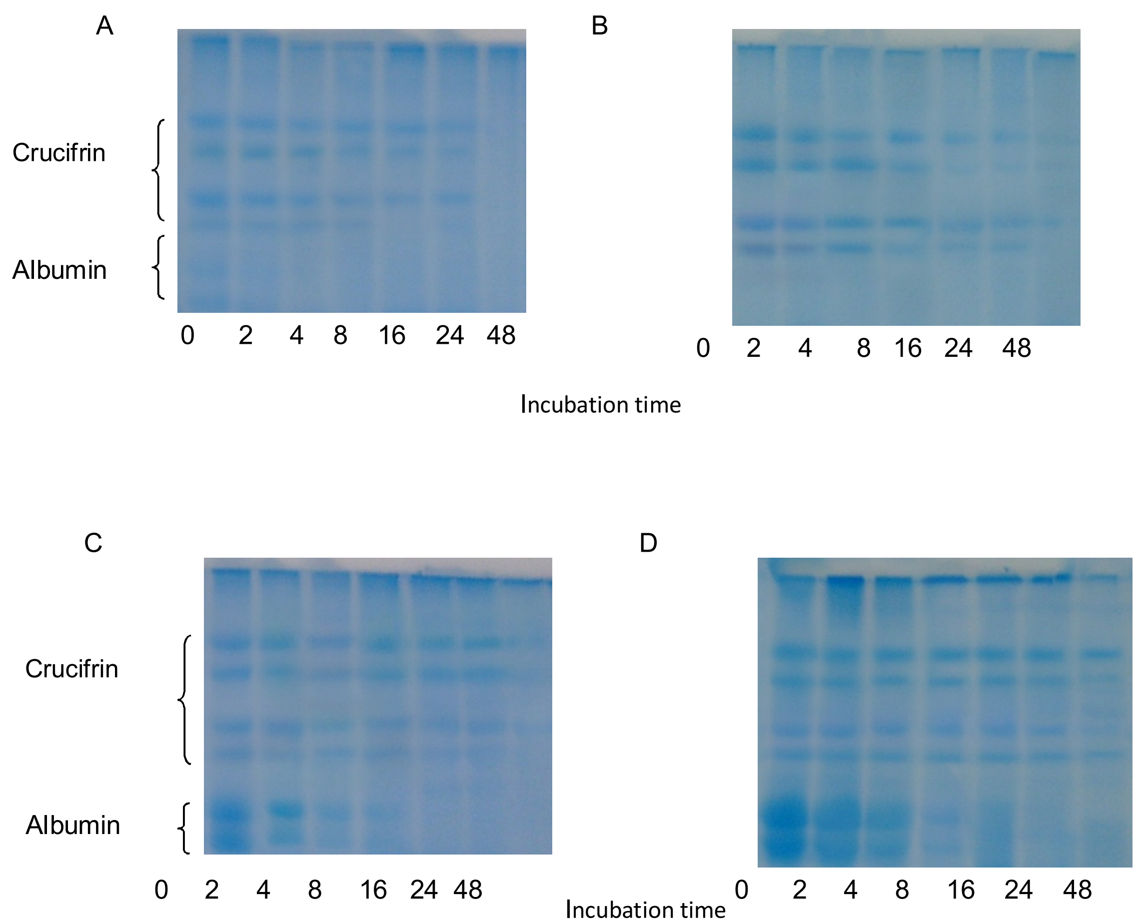
Figure 1- Molecular weights of standard protein (line 1) and canola meal protein subunits (lines 2 and 3)

الگوی زیرواحدهای پروتئین کنجاله منداب اصلاح شده

الگوی زیرواحدهای پروتئین کنجاله منداب اصلاح شده و مارکر پروتئینی در شکل ۱ نشان داده شده است. الکتروفورز پروتئین نشان داد که عمده پروتئین در کنجاله کانولا شامل آلبومین 2S (ناپین) با دو زیرواحد به وزن مولکولی ۱۵/۹ و ۱۳/۴ کیلودالتون و کروسیفرین (گلوبولین 12S) با چهار زیرواحد به وزن مولکولی ۳۹/۲، ۳۰/۵، ۲۳/۴ و ۲۱/۲ کیلودالتون بود که نتایج به دست آمده توسط باتی و همکاران (۷) همخوانی دارد. این محققین برای زیرواحدهای کروسیفرین وزن مولکولی ۳۲/۰، ۲۸/۲، ۲۱/۰ و ۱۸/۲ کیلودالتون و برای ناپین ۱۰/۳ و ۸/۰ کیلو دالتون گزارش کردند.

اثرات میکروویو بر زیرواحدهای پروتئین کنجاله منداب اصلاح شده

الگوی زیرواحدهای کنجاله منداب اصلاح شده عمل‌آوری نشده، عمل‌آوری با میکروویو به مدت ۲، ۴ و ۶ دقیقه در زمان‌های مختلف انکوباسیون در شکمبه (صفر، ۲، ۴، ۸، ۱۶، ۲۴ و ۴۸ ساعت) در شکل ۲ آمده است.



شکل ۲-الکتروفورز ژل پلی‌آکریلامید کنجاله منداب اصلاح شده عمل‌آوری نشده (A)، کنجاله منداب اصلاح شده عمل‌آوری شده با میکروویو به مدت ۲ دقیقه (B)، کنجاله منداب اصلاح شده عمل‌آوری شده با میکروویو به مدت ۴ دقیقه (C) و کنجاله منداب اصلاح شده عمل‌آوری شده با میکروویو به مدت ۶ دقیقه

Figure 2- Electrophoretic patterns of untreated (A), 2 min microwave irradiated canola meal (B), 4 min microwave irradiated canola meal (C) and 6 min microwave irradiated canola meal (D).

تجزیه الکتروفورز پروتئین کنجاله منداب اصلاح شده عمل‌آوری شده با میکروویو به مدت ۲ دقیقه در شکمبه (شکل ۲B) نشان داد که یک زیرواحد از کروسیفرین پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون در شکمبه ناپدید شد؛ ولی زیرواحدهای دیگر کروسیفرین تا ۴۸ ساعت انکوباسیون در شکمبه مقاوم بودند. زیرواحدهای ناپین کنجاله منداب اصلاح شده عمل‌آوری شده با میکروویو به مدت ۲ دقیقه در زمان صفر ناپدید شدند. تجزیه الکتروفورز پروتئین کنجاله منداب اصلاح شده عمل‌آوری شده با میکروویو به مدت ۴ دقیقه در شکمبه (شکل ۲C) و کنجاله منداب اصلاح شده عمل‌آوری شده با میکروویو به مدت ۶ دقیقه در شکمبه (شکل ۲D) نشان دادند که زیرواحدهای کروسیفرین تا ۴۸ ساعت انکوباسیون در شکمبه مقاوم به تجزیه بودند. همچنین، زیرواحدهای ناپین به ترتیب پس از ۴ و ۸ ساعت انکوباسیون در شکمبه تجزیه شدند. عمل‌آوری کنجاله کانولا با میکروویو تجزیه‌پذیری آن را در شکمبه کاهش داد. تجزیه الکتروفورز پروتئین کنجاله عمل‌آوری شده با میکروویو در شکمبه نشان داد که عمل‌آوری با میکروویو سبب کاهش تجزیه‌پذیری کروسیفرین و ناپین شد. صادقی و شورنگ (۴۳) گزارش کردند که کنجاله کانولا عمل‌آوری شده با میکروویو با قدرت ۸۰۰ وات به مدت ۴ و ۶ دقیقه مانع از تجزیه ناپین در زمان صفر انکوباسیون شد و به ترتیب پس از ۴ و ۶ ساعت انکوباسیون در شکمبه تجزیه شدند. فلاویو و آپنتن (۲۱) با استفاده از شدت انتشار آلینیونافالن ۸ اسید سولفونیک به عنوان کاوشگر فلورسنس آب‌گریز، اثر فرایند حرارتی بر ساختمان پروتئین‌های منداب مطالعه کردند. این محققان گزارش کردند که فرایند حرارتی سبب تغییراتی در پروتئین ناپین و کروسیفرین می‌شود که آب‌گریزی پروتئین ناپین و کروسیفرین را به دنبال دارد. افزایش آب‌گریزی پروتئین به دلیل جدا شدن پیوندهای هیدروژنی و سایر پیوندهای ضعیف غیر کووالانسی است. در نتیجه، با تغییر در ساختمان پروتئین و موقعیت آمینواسیدها تجزیه‌پذیری پروتئین کروسیفرین و ناپین کاهش یافت (۲۱).

نتیجه گیری کلی

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که پرتو میکروویو نه تنها تجزیه‌پذیری پروتئین کنجاله منداب اصلاح شده را به طور مؤثر کاهش داد؛ بلکه سبب افزایش قابلیت هضم برون‌تنی پروتئین و کاهش مقدار ترکیبات ضدتغذیه‌ای آن شد. همچنین با افزایش مدت زمان عمل‌آوری با میکروویو بخش سریع تجزیه پروتئین کنجاله منداب اصلاح شده کاهش و بخش کند تجزیه پروتئین آن افزایش یافت. عمل‌آوری با میکروویو تا ۴ دقیقه سبب افزایش قابلیت هضم برون‌تنی پروتئین کنجاله شد. بنابراین بر پایه یافته‌های این تحقیق، عمل‌آوری کنجاله منداب اصلاح شده با میکروویو به مدت ۴ دقیقه برای برای بهبود ارزش غذائی آن مفید بود. به هر حال لازم است تاثیر مصرف کنجاله عمل آوری شده با پرتو میکروویو بر عملکرد حیوان در شرایط برون تنی مورد بررسی قرار گیرد.

منابع

1-Ahmadi, K., H. R., Ebadzadah, H., Abshah, A. Kazemian, and M. Rafie. 2018. Statistics of Agriculture Agricultural year, 2016-2018. Ministry of Agriculture, Deputy of Planning and Economics, Information and Communication Technology Center. (In Persian).

2-Ahlin, K. A., M., Emmanuelson, and H. Wiktorsson. 1994. Rapeseed products from double cultivars as feed for dairy cow: effects of long term feeding on thyroid function, fertility and animal health. Acta Veterinaria Scandinaviva. 35: 37-53.

3-Alajaji, S. A., and T. A. El-Adawy. 2006. Nutritional composition of chickpea (*Cicer arietinum L.*) as affected by microwave cooking and other traditional cooking methods. Journal of Food Composition and Analysis, 19: 806–812.

4-Al-Kaiesy, M. T., H. A. Abdul-Kader, M. H. Mohammad, and A. H. Saeed. 2003. Effect of gamma irradiation on antinutritional factors in broad bean. Radiation. Physics and Chemistry, 67: 493-496.

5-AOAC. 1995. Official Methods of Analysis, 16th Ed. Association of Official Analytical Chemists. Arlington, VA, USA.

6-Banik S., S., Bandyopadhyay, and S. Ganguly. 2003. Bio-effects of microwave. Bioresource Technology. 87: 155 – 159.

7-Bhatty R. S., S. L., McKenzie and A.J. Finlayson. 1999. The proteins of rapeseed soluble in salt solutions. Canadian Journal of Biochemistry. 46: 1191-1197.

8-Bjarnason, J., and K. J. Carpenter. 1969. Mechanisms of heat damage in protein. I. Model with acetylated lysine units. British Journal of Nutrition. 23:858-868.

9-Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry. 72: 248-255.

10-Calsamiglia, S., and M. D. Stern. 1995. A three-step *in vitro* procedure for estimating intestinal digestion of protein in ruminants. Journal of Animal Science. 73: 1459-1465.

11-Chen, Q. C., and W. L. Betty. 2003. Separation of phytic acid and other related inositol phosphates by high-performance ion chromatography and its applications. Journal of Chromatography A, 1018: 41-52.
12-Clifford, A., and D. V. Smith. 1987. Rapid method for determinig total glucosinolates in rapeseed by enzimatically released glucose. Journal of the Science of Food and Agriculture, 38: 141-150.
13-Deacon, M.A., G., de Boer, and J. J. Kennelly, 1988. Influence of jet-sploding and extrusion on ruminal and intestinal disappearance of canola and soybeans. Journal of Dairy Science, 71: 745-753.
14-De Boland, A. R., G. B. Garner, and B. L. O Dell. 1975. Identification and properties of phytate in cereal grains and oilseed products. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 23: 1186- 1189.
15-Ebrahimi Mahmoudabad, S. R., A., Nikkhah, and A. A. Sadeghi. 2016. Aninutritional factors and ruminal degradation of dry matter and crude protein of microwave and gamma irradiated native rapeseed. Iranian Journal of Animal Science Research. 8 (1): 72-85. (In Persian).
16-Ebrahimi, S. R., A., Nikkhah, and A. A.Sadeghi. 2010. Changes in nutritive value and digestion kinetics of canola seed due to microwave irradiation. Asian-Australasian Journal of Animal Science, 27: 347-354.
17-Fakhouri, M. O., and H. S. Ramaswamy. 1993. Temperature uniformity of microwave heated food as influenced byproduct type and composition. Food Research International, 26: 89-95.
18-Fathi Nasri, M. H., J., France, M. Danesh Mesgaran, and E. Kebreab. 2008. Effect of heat processing on ruminal degradability and intestinal disappearance of nitrogen and amino acids in Iranian whole soybean. Livestock Science, 113: 43 –51.
19-Fenwick G. R., E. A., Spinks A. P., Wilkinson, R. K., Heaney, and M. A. Legoy. 1986. Effect of processing on the antinutrient content of rapeseed. Journal of the Science of Food and Agriculture, 37: 735–741.
20-Finley, J. W. 1989. Effects of processing on proteins: an overview. In: Protein Quality and the Effects of Processing (Ed. R.D. Phillips and J.W. Finley) Marcel Dekker, New York, NY, USA, pp. 1-7.
21-Folawiyo, Y. L., and R. K. O. Apenten. 1997. The effect of heat and acid treatment on the structure of rapeseed albumin (napin). Food Chemistry, 58: 237-243.
22-Ghanbari, F., T., Ghorchi, P., Shawrang, H., Mansouri, and N. Torbatinejad. 2014. Effect of irradiation on runinal disappearance of dry matter and crude protein and in vitro digestibility of canola meal. Journal of Animal Science (pajouhesh an sazandegi), 26: 55-66. (In Persian).
23-Gharaghani, H., M., Zaghri, G., Shahhosseini, and H. Moravej. 2008. Effect of gamma irradiation on anti-nutritional factors and nutrition value of canola meal for broiler chickens. Asian-Australasian Journal of Animal Science, 21: 1479-1485.
24-Huang, S., M., Liang, G., Lardy, H. E., Huff, M. S., Kerley, and F. Hsieh. 1995. Extrusion process of rapeseed meal for reducing glucosinolates. Animal Feed Science and Technology, 56: 1-9.
25-Khorasani, G. R., P. H., Robinson, and J. J. Kennelly. 1989. Effects of chemical treatment on *in vitro* and *in situ* degradation of canola meal crude protein. Journal of Dairy Science, 72, 2074-2080.
26-Jalilian, S., F., Fattahnia, P., Shawrang, and H. Mohammadzadah. 2015. Effect of different irradiation on runinal degradability and intestinal crude protein digestibility of sunflower meal. Journal of Animal Science Research, 25 (2). 69-80. (In Persian).
27-Laemmli, U.K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of head of bacteriophage T4. Nature, 227: 680-685.
28-Maheshwari, P. N., D. W., Stanley, and F. R. Van der Van. 1980. Microwave treatment of dehulled rapeseed meal to inactivate myrosinase and its effect on oil meal quality. Journal of American Oil Chemistry and Society. 57: 194–199.
29-Mandiki, S. N. M., G., Derycke, J. L., Bister, N., Mabon, J. P., Wathelet, M., Marlier, and R. Paquay, 2002. Chemical changes and influence of rapeseed antinutritional factor on gestating and lactating ewes. Part 1. Animal performances and plasma hormones and glucose. Animal Feed Science and Technology, 98: 25–35.
30-McNeill, L., K., Bernard, and M. G. MacLeod. 2004. Food intake, growth rate, food conversion and food choice in broilers fed on diets high in rapeseed meal and pea meal with observations of the resulting poultry meat. British Poultry Science, 45: 519–523.
31-Michalet-Doreau, B., and M.Y. Ould-Bah. 1992. *In vitro* and *in sacco* methods for the estimation of dietary nitrogen degradability in the rumen: a review. Animal Feed Science and Technology, 40: 57-86.
32-Moshtaghi Nia, S.A., and J. R. Ingalls. 1995. Influence of moist heat treatment on ruminal and intestinal disappearance of amino acids from canola meal. Journal of Dairy Sci. 78: 1552-1560.
33-Mubarak, A.E. 2005. Nutritional composition and antinutritional factors of mung bean seeds (*Phaseolus aureus*) as affected by some home traditional processes. Food Chemistry. 89: 489-495.
34-Murray, R.K., D.K., Granner, P.A., Mayes, and V.W. Rodwell. 2003. Harper's Biochemistry, 26th Ed. McGraw-Hill, New York, NY, USA.
35-National Research Council, 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th Ed. National Academy of Sciences, Washington, DC. Ananymous.
36-Oerlemans, K., D. M., Barrett, C.B., Suades, R. Verkerk, and M. Dekker. 2006. Thermal degradation of

glucosinolates in red cabbage. Food Chemistry, 95: 19–29.
37-Oliveira, M. E. C., and. A. S. Franca. 2002. Microwave heating of foodstuffs. Journal of Food Engineering, 53: 347-359.
38-Ørskov, E. R., and I. McDonald. 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation weighed according to rate of passage. Journal of Agriculture Science (Camb.), 92: 499-503.
39-Paya, H., A., Taghizadah, M., Janmohammadi, G. A., Moghaddam, and A. HosseinKhani. 2016. Effect of microwave irradiation on ruminal and intestinal disapearance of dry matter and crude protein of safflower seed by I situ and mobile nylon bag techniques. Journal of Animal Science Research, 26 (2): 121-130. (In Persian).
40-Peng Q., N.A., Khan, Z., Wanng, and D. Moist. 2014. Dry heating induced changes in protein molecular stracture, protein sub fractions and nutrient profiles in camelina seed. Journal of Dairy Science, 97: 446-457.
41-PHOTO-CAPT. 1999. V. 99. B.P. 66 TORCY. http://www.vilber.com
42-Piradl, A., R. Mirmohammadi, and H. Khalilvandi Behroozyar. 2017. Investigation of chemical changes, ruminal degradation and ruminal digestion of starch and crude protein of different variety of microwave irradiated barley grains. Journal of Ruminants Research, 5 (4): 119-144. (In Persian).
43-Sadeghi, A.A. and P. Shawrang, 2006. Effects of microwave irradiation on ruminal degradability and *in vitro* digestibility of canola meal. Animal Feed Science and Technology. 127: 45-54.
44-Sadeghi, A.A. and P. Shawrang. 2007. Effects of microwave irradiation on ruminal protein degradation and intestinal digestibility of cottonseed meal. Livestock Science. 106: 176–181.
45- SAS. 1996. Statistical Analysis System. SAS Intit. Inc., Cary, NC, USA.
46-Shawrang, P., S., Jalilian, F., Fattahnia, A. A., Sadeghi, and A.A. Mehrabi. 2017. Effect of irradiation from gamma, electron beam, microwave and infrared sources on ruminal degradability and in vitro digestibility of soybean meal. Journal of Animal Science Research, 27 (4). 217-230. (In Persian).
47-Sheikhalipoor, A., A., Hosseeinkhani, A., Taghizadah, and H. Mohammadzadah. 2018. Effect of different heat processing methods on nutritive value of common vetch seed in ruminants. Iranian Journal of Animal Science, 49: 427-436. (In Persian)
48-Siddhuraju, P., H. P. S. Makkar, and K. Becker. 2002. The effect of ionising radiation on anti-nutritional factors and the nutritional value of plant materials with reference to human and animal food. Food Chemistry, 78: 187-205.
49-Standford, K., G. L., Wallins, W. G., Smart, and A.A. Mc Allister. 2000. Effect of feeding canola screenings on apparent digestibility, growth performance and carcass characteristics of feedlot lambs. Canadian Journal of Animal Science, 80: 355-365.
50-Stefanello, C., S. L., Vieira, G. O., Santiago, L., Kindlein, J. B. O., Sorbara, and A. J. Cowieson. 2015. Starch digestibility, energy utilization, and growth performance of broilers fed corn-soybean basal diets supplemented with enzymes. Poultry Science, 94: 2472-2479.
51-Tamminga, S., W. M., Van Straalen, A. P. J., Subnel, R. G. M., Meijer, A., Steg, C.J.G., Wever, and M. C. Blok. 1994. The Dutch protein evaluation system: the DVE/OEB-system. Livestock Production Science, 40: 139–155.
52-Utsumi, S., and J. E. Kinsella. 1985. Structure function relationship in food proteins: Subunit interactions in heat induced gelation of 7S, 11S and soy isolate proteins. Journal of Agriculture and Food Chemistry. 33: 297–303.
53-Vallejo, F., F. A., Tomas-Barbern, and C. Garcia-Viguera. 2002. Glucosinolate and vitamin C contents in edible parts of broccoli florets after domestic cooking. European Food Research and Technology. 215: 310-316.
54-Van Soest, P. 1989. A reanalysis the digestibility of bound N in distillers grains. Proc. Cornell Nutr. Conf. Syracuse, NY. 127-136.
55-Van Soest, P. J. 1994. Nutritional Ecology of the Ruminants. 2nd Edition. Cornell University Press. NY. USA.
56-Van Soest, P. J., J. B., Robertson, and B. A. Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. Journal of Dairy Science, 74: 3583–3597.
57-Wagner, J. R., D. A., Sorgentini, and M. C. Anon. 2000. Relation between solubility and surface aromatic hydrophobicity as an indicator of modification during preparation processes of commercial and laboratory prepared soy protein isolates. Journal of Agriculture Food Chemistry, 48: 3159–3165.
58-Waldern, D. E. 1973. Rapeseed meal versus soybean meal as the only protein supplement for lactating cows fed corn silage roughage. Canadian Journalof Animal Science. 53: 107-112.
59-Wright, C.F., M. A. G., Von Keyserlingk, M. L., Swift, L. J., Fisher, J. A., Shelford, and N. E. Dinn. 2005. Heat and Lignosulfonate treated canola meal as a source of ruminal undegradable protein for lactating dairy cows. Journal of. Dairy Science. 88: 238-243.
60-Yan, X., N. A., Khan, F., Zhang, L., Yang, and P. Yu. 2014. Microwave irradiation induced changes in protein molecular structures of barley grains: relationship to changes in protein chemical profile, protein subfractions, and digestion in dairy cows. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 62 (28): 6546-6555.
61-Zeb, A. 1998. Possibilities and limitations of feeding rapeseed meal to broiler chicks. Ph.D thesis., Georg-August University Gottingen, Germany.

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 12, No. 3, Fall 2020, p. 291-305

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد ۱۲، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۹، ص. ۳۰۵-۲۹۱

Chemical Composition and Ruminal Dry Matter and Protein Degradation Parameters of Canola Meal Treated by Microwave Irradiation

Sayyed Roohollah Ebrahimi-Mahmoudabad[1*], Ali Nikkhah[2], Ali Asghar Sadeghi[3]
Submitted: 13-12-2018
Accepted: 10-11-2019

Introduction: In growing ruminants or early lactation dairy cows, production may be limited by a dietary metabolizable protein. In these conditions microbial protein synthesis is not sufficient to meet the animal's protein requirement. Canola meal (CM), which is an available and good source of protein in ruminant nutrition, especially in Iran. However the protein of CM is highly degradable by rumen microorganisms and on the other hand, anti-nutritional factors, such as phytic acid and glucosinolate in brassica-originated feed, are of concern relative to animal-originated feeds. Glucosinolates are a large group of sulphur-containing secondary plant metabolites and are known to reduce feed intake, induce iodine deficiency and depress fertility in ruminants. Several heat processing methods have been used to enhance nutritive value of oilseed meals, including extrusion, roasting, toasting and Jet-Sploding. Recently, treatment of oilseed meals with microwave irradiation was successful in reducing ruminal degradable protein, anti-nutritional factors and increasing digestible undegradable protein of them. Microwave irradiation is heating faster, processing in less time and higher energy efficiency compared to conventional methods. This research was carried out to evaluate the effects of microwave irradiation (800 W) for 2, 4 and 6 min on dry matter (DM), crude protein (CP) and true protein (TP) ruminal degradability, *in vitro* CP digestibility, antinutritional factors (glucosinolate and phytic acid), and chemical composition of CM.

Materials and Methods: The DM of CM was determined and then, sufficient water was added to sample to increase the moisture content of CM to 250 g/kg. Three samples (500 g each) were subjected to microwave irradiation at a power of 800 W for 2, 4 and 6 min. The samples were ground to pass a 2 mm screen for the ruminal *in situ* study. Degradation kinetics of DM, CP and TP were determined according to *in situ* procedure. Six grams of untreated or irradiated feed samples were incubated in the rumen of three ruminally fistulated Taleshi bulls for periods of 0, 2, 4, 8, 16, 24 and 48 h. The bulls were fed with a total mixed ration containing 700 g/kg of DM forage (700 g/kg alfalfa hay and 300 g/kg wheat straw on DM basis) and 300 g/kg of DM concentrate. The concentrate consisted of ground barley grain, canola meal, ground canola seed, cotton-seed meal, wheat bran, dicalcium phosphate and a vitamin+mineral premix (530, 130, 160, 40, 120, 10 and 10 g/kg DM, respectively). TP of samples were determined by Bradford's procedure. Digestibility of rumen undegraded CP was estimated using the three-step *in vitro* procedure. Sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) was used to monitor protein subfractions and the fate of true proteins of untreated and irradiated feed samples in the rumen.

Results and Discussion: Microwave irradiation had no effect on improving chemical composition of CM but decreased the total glucosinolate and phytic acid of CM linearly and quadratically. Microwave irradiation for 2, 4 and 6 min decreased the phytic acid content of CM by 13, 30 and 51% respectively, compared to untreated CM. The total glucosinolate contents of CM microwave irradiated for 2, 4 and 6 min decreased by 38.4, 56.0 and 67.1% respectively, compared to untreated samples. Microwave irradiation decreased the washout fraction, degradation rate and effective degradability (ED) of DM, CP and TP and increased potentially degradable fraction of DM, CP and TP of CM. The washout fraction of CP decreased by 15.7 and 39.8% in samples irradiated for 2, 4 and 6 min, respectively. Irradiation for 2, 4 and 6 min decreased ED of CP at a ruminal outflow rate of 0.05 h^{-1} by 13.6 and 22.7%, respectively. *In vitro* CP

1- Associate prof, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Shahr-e-Qods Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
2 And 3-Professor and associate Prof, respectively, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
(*- Corresponding Author Email: ebrahimiyazd@yahoo.com)
DOI:10.22067/ijasr.v12i3.77304

digestibility of CM increased by treating with microwave irradiation up to 4 min. CP digestibility of 2 and 4 min irradiated CM was increased by 6.9 and 10.5%, respectively. Electrophoresis results also indicated that major proteins of CM was Cruciferin (globulin 12S) and Napin (Albumin 2S). Electrophoresis results indicated that in untreated CM, four subunits of Cruciferin and in microwave irradiated CM, four subunits of cruciferin and two subunits of Napin consisted of by-pass proteins.

Conclusion: In this study, microwave irradiation, reduced ruminal degradability of CP and TP, increased *in vitro* CP digestibility and reduced anti-nutritional factors of CM. Subsequently, *in vivo* studies are required to investigate effect of feeding irradiated feedstuff on lactation performance of dairy cows.

Keywords: Anti-nutritional factors, Canola Meal, Degradability, Irradiation.